Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 1, Apr. May. 2019, p.25- 35

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 1، فروردین -اردیبهشت 1398 ص. 35-25

بررسی اثر پروتئاز قارچی *آسپرژیلوس نایجر* بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی گوشت گوساله

نیلوفر اسمعیلی خانی[1]- شادی مهدی‌خانی[2]- علی محمدی[3*]

تاریخ دریافت: 1395/09/14
تاریخ پذیرش: 1396/03/16

چکیده

کیفیت گوشت همیشه برای مصرف‌کنندگان آن بسیار مهم می‌باشد. تردکردن گوشت یکی از راه‌های بهبود کیفیت در گوشت و فرآورده‌های آن می‌باشد. در این مطالعه اثر سه سطح (0/0025، 0/005 و 0/01 درصد) از پروتئاز تولیدی به‌وسیله‌ی *آسپرژیلوس نایجر* بر میزان تردی گوشت طی 28 روز نگهداری، در دمای 4 درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. سپس تیمارها از نظر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی با نمونه شاهد ارزیابی شدند. در این مطالعه از آزمون‌های پروتئین محلول کل، محتوای رطوبتی، میزان pH، رنگ‌سنجی، سفتی بافت، ظرفیت نگهداری آب و آزمون حسی جهت بررسی پارامترهای کیفی گوشت استفاده شد. نتایج آزمون‌های انجام شده نشان داد که پروتئین‌های محلول، pH و محتوای رطوبتی تیمارهای تولید شده، با افزایش غلظت آنزیم از 0/0025 به 0/01 درصد به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است (P<0/05)، اما سفتی بافت نمونه‌ها کاهش یافت. همچنین نتایج نشان داد که ظرفیت نگهداری آب تمامی تیمارها در طی زمان مدت نگهداری کاهش یافته است ولی تیمار 0/01 آنزیم بیشترین ظرفیت نگهداری را در پایان مطالعه نشان داد. شاخص روشنایی (L*) و شاخص زردی (b*) تیمارها در مدت زمان نگهداری کاهش ولی شاخص قرمزی (a*) افزایش یافت، پروتئاز قارچی در طی زمان نگهداری سبب ایجاد رنگ قرمز تیره در نمونه‌های گوشت شد. در خصوص ویژگی‌های حسی تیمار حاوی 0/0025 درصد آنزیم قارچی و شاهد پذیرش قابل قبول‌تری را نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: *آسپرژیلوس نایجر*، پروتئاز، تردی گوشت، pH

مقدمه

گوشت یکی از مهم‌ترین منابع پروتئینی (با ارزش غذایی بالا) و تامین‌کننده انرژی روزانه مورد نیاز بشر بوده و کیفیت خوراکی آن تاثیر به‌سزایی در میزان مصرف آن خواهد داشت. از طرفی گوشت غنی از پروتئین‌های ارزشمند حاوی اسیدهای آمینه ضروری برای بدن، مواد معدنی مانند آهن و روی و انواع ویتامین‌ها می‌باشد (Aktas *et al*., 2003).

بهبود کیفیت گوشت همواره یکی از مهم‌ترین چالش‌های صنعت گوشت و فرآورده‌های آن بوده است. عواملی چون نوع دام، سن دام، عوامل ژنتیکی و نژاد دام، موقعیت تشریحی عضلات، میزان کلاژن و الاستین و همچنین نوع پختن و میزان حرارت دادن گوشت نیز بر روی کیفیت آن موثرند (Willy, 2011, Burdette *et al*., 2012). با افزایش سن دام تعداد اتصالات عرضی در کلاژن افزایش یافته و همچنین اتصالات ضعیف‌تر به اتصالات پایدارتری تبدیل می‌شوند که این خود باعث می‌گردد تا گوشت دام‌های مسن و پیر سفت‌تر از گوشت دام‌های جوان باشد، همچنین گسترش کلاژن در عضلات نیز به‌طور یکنواخت نمی‌باشد بلکه هرچه فعالیت فیزیکی عضله بیشتر باشد میزان کلاژن آن نیز بیشتر خواهد بود، به‌عنوان مثال ماهیچه قسمت ران محتوای بافت پیوندی بالاتری نسبت به کمر که اصولاً تکیه‌گاه ساختمانی است دارد (Willy, 2011). روش‌های مختلفی برای بهبود کیفیت گوشت و استفاده بهتر آن در تولید محصولات گوشتی وجود دارد (Burdette *et al*., 2012). یکی از این روش‌ها افزایش حلالیت پروتئین‌های گوشت و در نتیجه ترد شدن آن و بالا رفتن خواص امولسیون‌کنندگی و سایر خواص عملکردی آن مثل افزایش نگهداری آب می‌باشد (Hinkle, 2010, Willy, 2011).

1 و 2- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد شهر قدس.
3- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ساری.
(* - نویسنده مسئول: Email: mohammadi.ali60@gmail.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1396i0.60768

در مطالعات مختلف، استفاده از تردکنندههایی نظیر انواع آنزیم‌ها (گیاهی و میکروبی)، املاح قلیایی (پلی‌فسفات سدیم)، نمک‌ها (کلرید سدیم و کلرید کلسیم)، اسیدهای آلی (سیتریک، لاکتیک، استیک، ...) و ... در ترد کردن گوشت نتایج رضایت بخشی نشان داده‌اند (Aktas and Kaya, 2001, Desmond and Troy, 2001, Ergezer and Gokce, 2011).

کاربرد تجاری پروتئازهای میکروبی به علت تولید نسبتا آسان در مقیاس صنعتی در مقایسه با سایر پروتئازها بسیار موثرترند (Qihea *et al*., 2006). میکروارگانیسم‌ها یک منبع جذاب برای تولید پروتئازها هستند زیرا می‌توان آن‌ها را در مقادیر زیاد و با استفاده از روش‌های تخمیر کشت داد و در مدت زمان نسبتا کوتاهی به مقادیر بالایی از محصول مورد نظر دست یافت. همچنین آن‌ها می‌توانند به‌منظور دستیابی به آنزیم‌های جدید با خواص تغییر یافته که برای کاربردهای مورد نظر مناسب‌اند مورد دست ورزی ژنتیکی قرار گیرند. به‌طور کلی پروتئازهای میکروبی در طبیعت خارج سلولی هستند و به‌طور مستقیم به محیط کشت تخمیر ترشح می‌شوند که این باعث ساده شدن فرآیندهای پایین دستی آنزیم در مقایسه با پروتئازهای گیاهی و جانوری می‌گردد (Al-Shehri *et al*., 2004b). Ashie و همکاران (2002) اثر پاپائین و آنزیم‌های پروتیئاز میکروبی را بر روی تردی گوشت گاو مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که آنزیم پروتئاز میکروبی سبب هیدرولیز 20-30 درصد میوفیبریل‌های گوشت، و در نهایت سبب افزایش تردی گوشت بدون آنکه تاثیری بر روی pH، نمک، فسفات و اسید اسکوربیک را نشان داده باشد شده است. Walsha و همکاران (2010) اثر سدیم لاکتات، پتاسیم لاکتات، کاراگینان، پروتئین آب پنیر، عصاره مخمر و پروتئازهای قارچی را بر پخت و تردی ماهیچه گاو مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که تمامی تیمارهای مورد مطالعه سبب افزایش معنی‌داری در بهبود کیفیت پخت شده‌اند اما در این بازه عصاره مخمر تاثیر معنی‌داری را نشان نداد. هم‌چنین نتایج نشان داد استفاده از آنزیم‌های قارچی در یک محیط آبی سبب افزایش میزان تردی و کیفیت پخت شده‌اند ولی افزایش غلظت آنزیم به گونه‌ای کیفیت پخت را کاهش داده است. Ha و همکاران (2013) توانایی پروتئازهای تجاری میکروبی و قارچی را بر ترد کردن گوشت مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که پروتئاز میکروبی در مقایسه با پاپائین در هیدرولیز کلاژن کارآمدتر بوده است. از سوی دیگر پروتئازهای قارچی مورد استفاده خصوصیات انتخابی در هیدرولیز بافت همبند نشان دادند، به‌طوری که آن‌ها میل ترکیبی بالایی را برای هیدرولیز زنجیره‌های پروتئینی y، B و I کلاژن داشتند. همچنین Rydera و همکاران (2015) خصوصیات و توانایی پروتئازهای قارچی و میکروبی را جهت هیدرولیز پروتئین‌های میوفیبریلی و بافت همبند مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد در میان پروتئازهای مورد استفاده پروتئاز قارچی در مقایسه با پروتئاز میکروبی سرعت بالاتری را برای هیدولیز پروتئین‌های میوفیبریلی گوشت نشان داده است، همچنین هر چهار پروتئاز مورد استفاده توانایی بالقوه‌ای را در هیدرولیز بافت همبند نشان دادند. ارشا و همکاران (2016) تاثیر پروتئازهای میکروبی و گیاهی را بر بهبود تردی گوشت مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها گزارش کردند که پروتئازهای میکروبی تاثیر معنی‌داری بر هیدرولیز پروتئین‌های بافت همبند نظیر کلاژن و الاستین دارند ولی این آنزیم‌ها بر روی هیدرولیز پروتئین‌های میوفیبریلی تاثیر ناچیزی را داشته‌اند. لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر پروتئاز قارچی *آسپرژیلوس نایجر* بر بهبود ویژگی‌های کیفی، تردی و حسی گوشت گاو در طی مدت زمان نگهداری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در ابتدا محلول عصاره آنزیم پروتئولیتیکی *آسپرژیلوس نایجر* به‌صورت خالص از پژوهشگاه علوم و فناوری اطلاعات ایران تهیه شد. در ادامه، 0/25، 0/5 و 1 گرم از عصاره آنزیمی وزن شد و با آب مقطر به حجم 100 میلی‌لیتر رسانده شد و محلول‌های 0/0025، 0/005 و 0/01 درصد آنزیمی تهیه شد. در ادامه 4 نمونه 500 گرمی از عضله لوزی شکل[1] گوساله‌های نر هلشتاین 1/5 ساله از کشتارگاه شرکت راک بلافاصله بعد از کشتار تهیه شد. نمونه‌ها به مدت 48 تا 72 ساعت در یخچال 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (شکر فروش و همکاران، 1388). یک نمونه به‌عنوان کنترل غیرتزریقی (نمونه شاهد) نگهداری شد. سپس به 3 نمونه (500 گرمی با ابعاد 10×20 سانتی‌متر) دیگر محلول آنزیم‌ها تزریق شد. سپس تزریق عصاره‌های آنزیم به راسته‌ها به‌وسیله دستگاه انژکتور (Nowicki، آلمان) با مقادیر 0/01 درصد (AN 0/01)، 0/005 درصد (AN 0/005) و 0/0025 درصد (AN 0/0025) (میلی‌گرم/100گرم گوشت) از پروتئاز قارچی به‌طور جداگانه به قطعات گوشت انجام گرفت. قطعات گوشت با استفاده از دستگاه تزریق‌کننده، با 4 ردیف سوزن که در هر ردیف 10 سوزن با فاصله 2/8 سانتی‌متر و فشار تزریق 35 Psi قرار داشتند تیمار شدند. بعد از تزریق، نمونه‌های عضلات تحت خلاء، درون کیسه‌های پلی‌اتیلنی با ابعاد 15×30 سانتی‌متر بسته‌بندی شدند و بلافاصله در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به مدت 28 روز نگهداری شدند. در روزهای 1، 7، 14، 21 و 28 آزمون‌های مربوطه بر روی تیمارهای مورد نظر صورت گرفتند.

اندازه‌گیری pH

جهت اندازه‌گیری pH، 10 گرم از نمونه گوشت چرخ شده از ماهیچه راسته در 90 گرم آب دیونیزه مخلوط گردید. سپس مخلوط

1 *Rhomboideus*

آماده شده از کاغذ صافی زبر (واتمن متوسط، قطر 150 میلی‌متر) عبور داده شد. در نهایت با استفاده از pHمتر دیجیتال (KL 04II، سوئد)، میزان pH اندازه‌گیری شد (Naafi *et al*., 2012).

اندازه‌گیری محتوای رطوبت

رطوبت همگن شده نمونه‌های گوشت، با استفاده از روش آون و طبق استاندارد AOAC به شماره 950/46 انجام گرفت.

اندازه‌گیری پروتئین

اساس آزمایش بر مبنای اندازه‌گیری کل ازت موجود در غذاها با فرض بر اینکه تمام ازت موجود از نوع پروتئینی بوده و با استفاده از ضرایب تبدیل ازت به پروتئین استوار است. جهت تعیین مقادیر پروتئین، از روش مندرج در AOAC (1996). استفاده شد. جهت سنجش پروتئین از روش کجلدال به‌وسیله دستگاه کجلدال (ژاپن، Switzerland, 322-Buchi B) استفاده شد.

رنگ‌سنجی

رنگ گوشت توسط یک رنگ‌سنج (CR-300,Minolta, Co. Ltd., Japan) و هر هفت روز یک بار سنجیده شد. کاشی سفید با مشخصات b*: 1.72؛ a*:-0.02؛ L*:97.46 به‌عنوان مرجع در نظر گرفته شده است (Kaya and Belibagli, 2002).

آزمون بافت سنجی

این تست به‌منظور بررسی قدرت آنالیز بافتی نمونه‌ها و بر اساس روش Fiszman و همکاران (1999) توسط بافت‌سنج (Brookfield Engineering Laboratories, USA) انجام گرفت. در این آزمون از قطعات گوشتی با ابعاد 2×2 سانتی‌متر پروب استوانه‌ای با سطح مقطع صاف به قطر 12/7 میلی‌متر و سرعت حرکت 1 میلی‌متر بر ثانیه تا کمپرس شدن 25 درصد قطر نمونه استفاده گردید.

ظرفیت نگهداری آب

برای اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب، مقدار آبی که از سطح مقطع برش (2×2 سانتی‌متر) نمونه‌های گوشت تحت فشار 500 psi و زمان 1 دقیقه به کاغذ صافی جذب شده بود، با دقت 0/001 گرم توزین و به‌صورت درصد رطوبت قابل استخراج بیان گردید (Hertog-Meischke *et al*., 1997).

ارزیابی ویژگی‌های حسی

در آزمون حسی، نمونه‌ها در داخل آون 163 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و نقطه پایانی عمل پخت از طریق کنترل دمای مرکزی نمونه با استفاده از یک ترمومتر مخصوص گوشت که در مرکز هر گوشت قررا داده شده بود صورت پذیرفت. با رسیدن دمای نقطه مرکزی به دمای 77 درجه سانتی‌گراد، نمونه‌ها از آون خارج و در دمای اتاق به مدت 2 ساعت در دمای 4 درجه سانتی‌گراد یخچال نگهداری شدند. ارزیابی ویژگی‌های حسی از لحاظ پنج فاکتور شامل تردی، آبداری، بافت، رنگ و پذیرش کلی با استفاده از 10 نفر ارزیاب آموزش دیده با روش هدونیک با تکمیل پرسشنامه ارزیابی، صورت گرفت. به هر یک از فاکتورهای اشاره شده امتیازی از 1 تا 5 اختصاص داده شد. نحوه امتیازدهی بر این اساس بود که که عدد 5 نشان‌دهنده بالاترین امتیاز و عدد 1 نشان‌دهنده پایین‌ترین امتیاز بود (Zeola *et al*., 2003).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

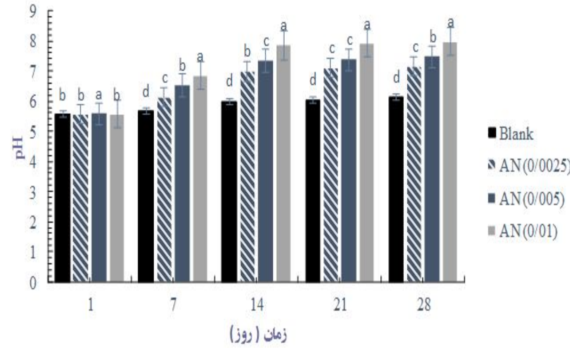
کلیه آزمایش‌ها در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. میانگین‌ها با نرم‌افزار spss 21 و بر اساس آزمون‌های دانکن در سطح پنج درصد مقایسه شدند. نمودارهای حاصل در نرم‌افزار excel 2013 رسم گردید و مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

ارزیابی pH

نتایج حاصل از میزان تغییرات pH نمونه‌ها در هر مرحله از پژوهش در شکل 1 نشان داده شده است. همانطور که نتایج نشان می‌دهد در تمامی مراحل تفاوت معنی‌داری بین تمامی تیمارها از لحاظ تغییرات pH وجود دارد ($P<0.05$). تمامی تیمارهای مورد مطالعه pH بالاتری از نمونه‌ی شاهد را نشان دادند. در این مطالعه با افزایش میزان غلظت آنزیم مقدار pH افزایش یافته است، که این نتایج با نتایج Rydera و همکاران (2015) در خصوص افزودن آنزیم پروتئاز قارچی به گوشت جهت ترد کردن آن همخوانی دارد. این افزایش pH را می‌توان تا حد زیادی به بالا بودن pH پروتئاز قارچی تزریق شده در این مطالعه مرتبط دانست. پروتئازهای قلیایی برای کاربردهایی نظیر ترد کردن گوشت مفید می‌باشند و غالبا در pH= 8-12 و در درجه حرارت 70-50 درجه سانتی‌گراد فعالیت بالایی دارا هستند (Al-Shehri *et al*., 2004a). محدوده pH مطلوب برای پروتئازهای قلیایی به‌طور کلی بین 9 تا 11 می‌باشد (Rydera *et al*., 2015).

مقدار pH به‌عنوان یکی از عوامل موثر بر تردی گوشت گوساله و گوسفند گزارش شده است (Ryder *et al*., 2016). نتایج بررسی‌های مختلف نشان می‌دهد که گوشت‌های دارای pH بیشتر، تردتر هستند (Ha *et al*., 2014). رابطه pH و نیروی برشی به‌صورت یک نمودار زنگوله‌ای است که پیک این منحنی در حدود pH 9/5 می‌باشد.



شکل 1- میزان تغییرات pH نمونه‌های گوشت ترد شده

افزایش pH عضله از حد معمول 5/5 به مقادیر حد واسطه 6 با افزایش سفتی گوشت همراه است. سپس با افزایش بیشتر pH از مقادیر حد واسطه 6/3 -5/8 تا حدود 7 نیروی برشی کاهش می‌یابد (Rydera *et al.*, 2015). در همین زمینه کمترین فعالیت پروتئولیتیک در pH نهایی متوسط (6/3 -5/8) دیده می‌شود. زیرا که خارج از pH بهینه سیستم آنزیمی می‌باشد. افزایش تردی در pH نهایی 6 تا 7 به کالپین که حداکثر فعالیت خود را در این محدوده دارد، مربوط می‌شود (Ha *et al.*, 2014). در مقابل، افزایش تردی با کاهش pH نهایی به زیر 6 به دلیل افزایش فعالیت MFI پروتئاز اسیدی است. افزایش شاخص تجزیه میوفیبریلی گوشت[1] یا اندیس MFI همگام با افزایش pH، بیانگر آن است که تاثیر pH بر نیروی برشی احتمالا از طریق تاثیر آن بر پروتئین های میوفیبریلی است (Ryder *et al.*, 2016).

پس از رسیدن گوشت نیز، نیروی برشی کاملا به pH وابسته است، هرچند که اثر آن تحت تاثیر تغییرات پس از کشتار کاهش می‌یابد. همچنین رابطه مستقیمی بین تردی گوشت پخته و pH نهایی آن وجود دارد. گذشته از اثر pH بر آنزیم، موارد دیگری هم گزارش شده اند. زمانی که pH نهایی به زیر 6/2 می‌رسد، طول سارکومر افزایش می‌یابد (Al-Shehri *et al.*, 2004a). این نتایج با نتایج Flores و Toldrá (2011) در خصوص تاثیر آنزیم‌های میکروبی بر بهبود ویژگی‌های گوشت و همچنین Sullivan و Calkins (2010) در خصوص استفاده آنزیم‌های باکتریایی بر هیدرولیز بافت همبند و میوفیبریلی گوشت مطابقت داشت.

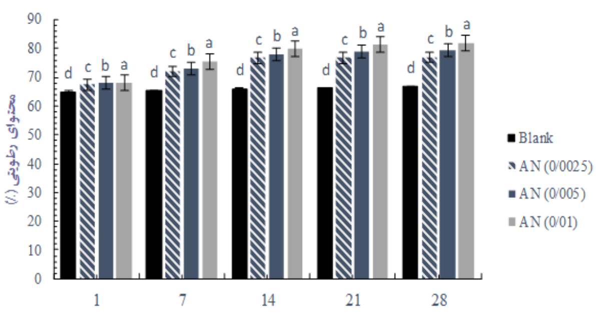
اندازه‌گیری محتوای رطوبت

مقایسه آماری میانگین‌ها میزان محتوای رطوبتی گوشت‌های ترد شده را معنی‌دار نشان داد ($p<0.05$) در میان تیمارهای مورد مطالعه تیمار حاوی 0/01 عصاره *آسپرژیلوس نایجر* دارای بالاترین میزان

1 Myofibril fragmentation index

محتوای رطوبتی بعد از 28 روز نگهداری بود. بالا رفتن میزان محتوای رطوبتی را می‌توان با بالا رفتن میزان pH مرتبط دانست. نتایج حاصل از آزمون محتوای رطوبتی گوشت در شکل 2 نشان داده شده است. به‌طور کلی با افزایش میزان غلظت آنزیم‌ها میزان محتوای رطوبتی گوشت‌های ترد شده افزایش یافته است. Istrati و همکاران (2012) اثر آنزیم‌های پروتئولیتیک گیاهی را بر روی ترد کردن گوشت مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد در اثر تزریق آنزیم‌های پرتئولیتیکی به گوشت گاو میزان آبداری گوشت افزایش پیدا کرده است، که این میزان آبداری نمونه‌های گوشت تیمار شده با آنزیم‌های پروتئاز، می‌تواند وابسته به pH نمونه‌ها باشد.

یکی از اهداف این پژوهش افزایش آبداری گوشت بود که در این مطالعه تحقق یافت. در مقادیر بالاتر از نقطه ایزوالکتریک پروتئین‌های عضله، ظرفیت نگهداری آب بالا می‌رود که علت آن وجود نیروی دافعه در اثر بارهای الکتریکی یکسان بین واحدهای اسیدآمینه و افزایش فضای بین میوفیبریل‌ها می‌باشد (Li *et al.*, 2014). با توجه به تاثیر عصاره‌ها بر pH نمونه‌ها و دور ساختن آن از نقطه ایزوالکتریک، ظرفیت نگهداری آب گوشت افزایش یافته در نتیجه گوشت پس از پخت، طعم بهتر و آبدارتر و خوشمزه‌تری خواهد داشت، همچنین از لحاظ کیفیت خوراکی مطلوب‌تر می‌باشد (Naveena *et al.*, 2004b). تغییرات حاصل از افزایش pH گوشت می¬تواند سبب تورم فیبرهای عضلانی و بافت پیوندی، تضعیف ساختار پروتئینی، افزایش حلالیت کلاژن در حین پخت و افزایش میزان تجزیه پروتئولیتیک در گوشت توسط آنزیم شود (Warriss, 2000). این نتایج با نتایج Flores و Toldrá (2011) در خصوص تاثیر آنزیم¬های میکروبی بر بهبود ویژگی¬های گوشت مطابقت دارد.

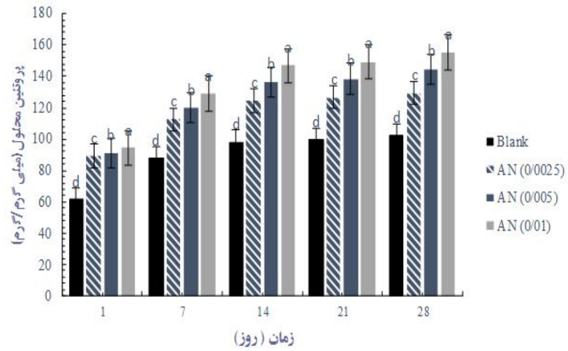


شکل2- میزان تغییرات محتوای رطوبتی نمونه‌های گوشت ترد شده

ارزیابی کل پروتئین محلول

مقایسه آماری میانگین‌ها تاثیر غلظت‌های مختلف آنزیم قارچی تزریق شده را بر تغییرات کل پروتئین‌های محلول گوشت در طی

نگهداری معنی-دار نشان داد (p<0.05). نتایج حاصل از تغییرات پروتئین‌های محلول در شکل 3 نشان داده شده است.



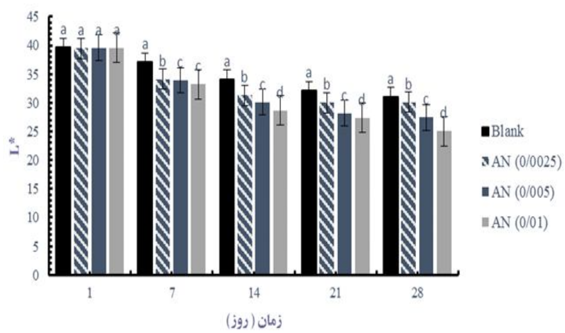
شکل3- میزان تغییرات پروتئین کل نمونه‌های گوشت ترد شده

همانطور که مشاهده می‌کنید در ابتدای انجام مطالعه همگی تیمارها در محدوده‌ای یکسان از لحاظ میزان پروتئین محلول قرار داشته‌اند ولی در طی فرآیند و با گذشت زمان این میزان افزایش پیدا کرده است. Rawdkuen و Benjakul (2012) اثر پروتئازهای گیاهی مختلف را بر تغییرات ساختاری و بیوشیمیایی گوشت جوجه، خوک و گاو مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد نمونه‌های تیمار شده با آنزیم، درمقایسه با نمونه شاهد افزایش معنی‌داری را در میزان پپتیدهای محلول و تجزیه پروتئین‌های میوفیبریلی از خود نشان داده‌اند. در اثر استفاده از آنزیم‌های گیاهی و افزایش غلظت آن‌ها در سطح میکروسکوپی، فیبرهای بافت شکسته شدند و ارتباط بین سارکولما و میوفیبریل‌ها از بین رفت. در بین آنزیم‌های مورد استفاده در این تحقیق، بالاترین میزان فعالیت هیدرولیز مربوط به پروتئازهای شیرابه پاپایا بود. نتایج این پژوهش با نتایج، Bhaskar و همکاران (2008)، که تاثیر پروتئازهای میکروبی را بر میزان هیدرولیز پروتئین‌های گوشت گاو و همچنین Ovissipour و همکاران (2009) که تاثیر هیدرولیز آنزیمی را بر میزان هیدرولیز پروتئین‌های گوشت ماهی خاویاری مورد بررسی قرار دادند مطابقت دارد.

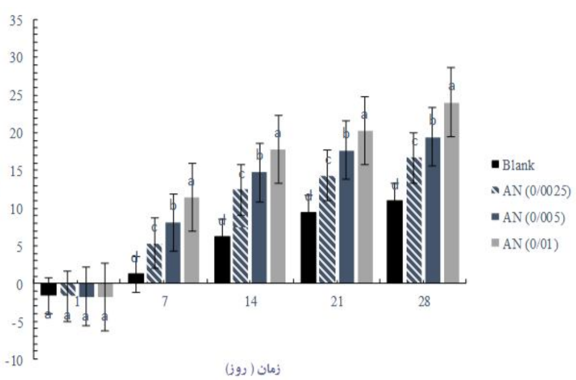
رنگ‌سنجی

یکی از مهم‌ترین جذابیت‌های بصری گوشت میزان رنگ و زیبایی آن می‌باشد. موجودات می‌بایستی از غذاهایی تغذیه شوند که رنگ مورد نظر مطلوب در آن‌ها ایجاد شود. چهار گروه رنگدانه اصلی مسئول ایجاد رنگ در بافت و پوست حیوانات و گیاهان می‌باشند که عبارتند از: ملانین، پورین، پریدیوم و کارتنوئیدها که به راحتی در چربی‌ها حل می‌شوند و دامنه رنگی زرد تا قرمز را در پوست و بافت ایجاد می‌نمایند. همچنین مسئول رنگ نارنجی و سبز در تخم، پوست و گوشت ماهیان و حیوانات می‌باشند (Fuji, 1969). نتایج به‌دست آمده در تحقیق در ارتباط با رنگ‌سنجی گوشت ترد شده متفاوت با Booth و همکاران (2004) و Lorenz و همکاران (1988) که از سطوح مختلف پودر فلفل قرمز در ماهی طلایی استفاده کرده بودند، مطابقت نداشت به‌طوری که تاثیر معنی‌داری در تغییر رنگ گوشت مشاهده نگردید. اما این نتایج با نتایج Lee و همکاران (2009) مطابقت داشت.در این آزمایش سطوح بالای آنزیم باکتریایی سبب تغییر بالاتری در رنگ گوشت ترد شده داشته است.

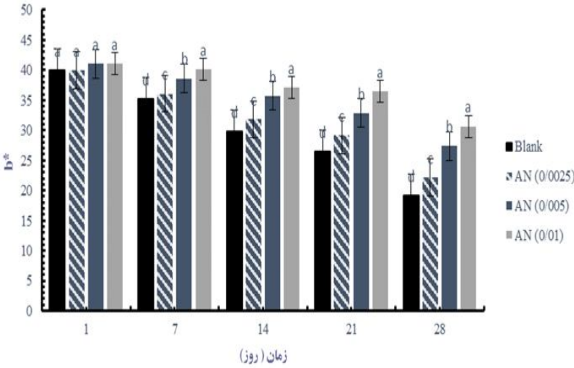
نتایج حاصل از شاخص قرمزی روندی افزایشی را نشان داد و بین تیمار شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<0.05). که این می‌تواند به دلیل حساسیت پروتئین‌های سارکوپلاسمیک نسبت به تغییر pH و رسوب آن‌ها روی پروتئین‌های میوفیبریلی و در نتیجه تغییر در رنگدانه میوگلوبین گوشت باشد که باعث افزایش تیرگی و قرمزی گوشت می‌شود (Lee *et al*., 2009). در این آزمایش سطوح بالای آنزیم باکتریایی سبب تغییر بالاتری در قرمزی رنگ گوشت ترد شده داشته است.



شکل 4- تاثیر غلظت‌های مختلف آنزیم قارچی *اسپرژیلوس نایجر* بر روی میزان شاخص *L گوشت



شکل 5- تاثیر غلظت‌های مختلف آنزیم قارچی *اسپرژیلوس نایجر* بر روی میزان شاخص *a گوشت

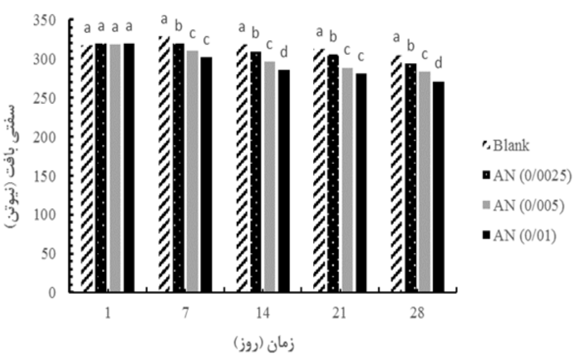


شکل 6- تاثیر غلظت‌های مختلف آنزیم قارچی *اسپرژیلوس نایجر* بر روی میزان b* گوشت

همچنین بیشترین سبزی مربوط به تیمار شاهد و کم‌رین مربوط به نمونه 001/ باکتریایی بوده است. در رابطه با شاخص زردی، به‌ترتیب تیمارهای شاهد بیشترین و تیمار 001/ آنزیم کمترین مقادیر را نشان دادند. اما در شاخص روشنایی تیمار شاهد دارای بالاترین میزان و تیمار باکتریای دارای کمترین میزان بوده است. Sawyer و همکاران (2008) در تحقیقی ارزیابی اثر افزایش مقادیر متفاوت اسید لاکتیک (0/5، 0/1، 1/5 و 2 درصد) همراه با نمک به میزان 0/5 درصد و همچنین بدون حضور نمک بر روی pH، ظرفیت نگهداری آب و رنگ حاصله در نتیجه پخت انجام گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که افزودن اسیدلاکتیک به گوشت گاو که باعث کاهش pH گوشت می‌گردد بر روی رنگ استیک‌ها مشابه رنگ استیک‌های حاصل از گوشت با pH نرمال اثر بهبودکنندگی دارد. محتوای نمک اضافه شده به نمونه‌ها دارای اثر بسیار ناچیزی می‌باشد که حتی می‌توان گفت اصلاً اثر مثبتی بر روی ظرفیت نگهداری آب یا بهبود و توسعه رنگ حاصله نداشت. همچنین مشاهده شد که افزایش اسیدلاکتیک در مقادیر بیش از یک درصد برای ویژگی‌های گوشت تازه و پخته بسیار مفید باشد

سفتی بافت

میزان تردی را می‌توان ناشی از بروز تغییر در سه نوع پروتئین موجود در عضله دانست که بافت پیوندی (کلاژن، الاستین، رتیکولین، موکوپلی‌ساکاریدهای ماتریکس)، تارهای عضلانی (اکتین، میوزین، تروپومیوزین و تروپونین) و سارکوپلاسم (پروتئین‌های سارکوپلاسمیک) می‌باشند (Rydera *et al*., 2015). نفوذ یکنواخت آنزیم‌ها در گوشت در میزان تردی آن بسیار موثر است. در صورت وارد کردن قطعات گوشت در محلول‌های آنزیمی فقط سطح گوشت ترد شده و قسمت‌های عمقی دارای تردی کمتر هستند. یکی از روش‌هایی که بر این مشکل فائق می‌آید ورود محلول آنزیم به قطعات گوشت قبل از پخت و از طریق سوراخ‌های ایجاد شده در گوشت است (Flores and Toldrá, 2011). بنابراین می‌توان آنزیم‌ها را به داخل عضلات تزریق نمود. پروتئازها، یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های صنعتی هستند که حدود 60 درصد از آنزیم‌های تجاری کلی را شامل می‌شوند. پروتئاز، آنزیمی است که موجب پروتئولیز (تجزیه پروتئین‌ها) می‌گردد، که این کار را توسط کاتابولیسم پروتئین، از طریق هیدرولیز باندهای پپتیدی که موجب اتصال اسیدهای آمینه به یکدیگر در زنجیره پلی‌پپتیدی می‌گردد، انجام می‌دهند (Devi *et al*., 2008, Gupta and Khare, 2007). در این مطالعه از غلظت‌های مختلفی از آنزیم پروتئاز قارچی استفاده شد که نتایج نشان داد با افزایش غلظت میزان سفتی کاهش معنی‌دار را نشان داده است ($P<0.05$)، به‌طوریکه غلظت 0/01 درصد آنزیم پروتئاز کمترین میزان سفتی بافت را داشته است. که این می‌تواند به این دلیل باشد که با افزایش غلظت آنزیم قارچی میزان هیدرولیز پروتئین‌های (همبند و میوفیبریلی) نسبت به نمونه شاهد افزایش یافته است و در نتیجه آن میزان سفتی بافت نیز نسبت به نمونه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داده است ($P<0.05$).

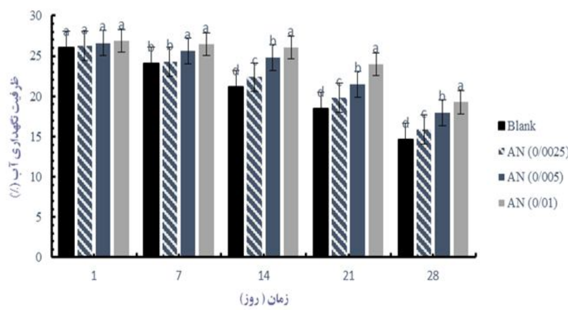


شکل 7- میزان تغییرات سفتی بافت نمونه‌های گوشت ترد شده

در پژوهشی مشابه Rydera و همکاران (2015) خصوصیات و توانایی پروتئازهای قارچی و میکروبی را جهت هیدرولیز پروتئین‌های میوفیبریلی و بافت همبند مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد پروتئاز قارچی مورد استفاده توانایی بالقوه‌ای در هیدرولیز بافت همبند دارد، همچنین Arsha و همکاران (2016) تاثیر پروتئاز میکروبی را بر بهبود ویژگی تردی گوشت مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها گزارش کردند که پروتئازهای میکروبی تاثیر معنی‌داری بر هیدرولیز پروتئین‌های بافت همبند نظیر کلاژن و الاستین دارند ولی این آنزیم‌ها بر روی هیدرولیز پروتئین‌های میوفیبریلی تاثیر ناچیزی داشته‌اند

ظرفیت نگهداری آب

یکی از عوامل مهم و موثر بر تردی، ظرفیت نگهداری آب در گوشت است. نتایج تاثیر غلظت‌های مختلف آنزیم قارچی را بر ظرفیت نگهداری گوشت در طی 28 روز نگهداری معنی‌دار نشان داد (P<0.05). نتایج نشان داد که با افزایش غلظت آنزیم قارچی ظرفیت نگهداری آب افزایش یافته است. این می‌تواند به این دلیل باشد که با افزایش مدت زمان تاثیر آنزیم و غلظت آنزیم بر پروتئین‌های نامحلول گوشت مانند کلاژن و الاستین باشد که کاملا هضم شده و ماهیت آن‌ها تغییر کرده است. به‌طور کلی ظرفیت نگهداری آب تیمارهای مورد بررسی در طی زمان نگهداری روندی نزولی را طی نمودند. در پایان مطالعه گوشت‌های تیمار شده با غلظت 0/01 آنزیم بیشترین و نمونه شاهد کمترین ظرفیت نگهداری آب را نشان دادند. دلیل بالا بودن ظرفیت نگهداری آب می‌تواند pH بالا و محتوای رطوبتی گوشت‌های تیمار شده با غلظت 0/01 آنزیم قارچی باشد.



شکل 8- میزان تغییرات ظرفیت نگهداری آب نمونه‌های گوشت ترد شده

گوشت‌های با ظرفیت نگهداری آب زیاد که از pH بالا نشات می‌گیرند، معمولا از گوشت‌های با pH کم و pH متوسط تردتر هستند (سلطانی‌زاده و کدیور، 1390). در پژوهش‌های انجام شده بهبود ظرفیت نگهداری آب در گوشت‌های نگهداری شده پس از کشتار به اثبات رسیده است (Bertram *et al*. 2004; Kristensen and Purslow, 2001). این مشاهده به تجزیه پروتئولیتیکی پروتئین‌های سیتواسکلتی، تورم ماتریکس میوفیبریلی و در نهایت افزایش نگهداری آب ماهیچه توسط ساختار گوشت ارتباط داده شده است. همچنین بخیت و همکاران (2014) تاثیر آنزیم‌های میکروبی و گیاهی را بر بهبود تردی گوشت مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که هر دو آنزیم مورد استفاده تاثیر معنی‌داری را بر ظرفیت نگهداری گوشت نشان داده‌اند، در میان آنزیم‌های مورد استفاده آنزیم‌های باکتریایی تاثیر بیشتری را بر بهبود تردی و ظرفیت نگهداری گوشت نشان دادند. راودکوئن و همکاران (2013) تاثیر آنزیم‌های پروتئولیتیکی را بر بهبود ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و تردی گوشت گاو مورد بررسی قرار دادند که نتایجی مشابه با نتایج مطالعه حاضر را گزارش کردند. Ke و همکاران (2009) اثر اسید سیتریک را بر روی تردی، ساختار و پایداری اکسیداتیو ماهیچه گوشت گاو مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها گزارش کردند استفاده که افزایش pH باعث بهبود ظرفیت نگهداری آب و تردی گوشت می‌شود (Ke *et al*. 2009).

ارزیابی ویژگی‌های حسی

نتایج اثر غلظت‌های مختلف آنزیم قارچی تزریق شده به گوشت را بعد از 28 روز مطالعه معنی‌دار نشان داد (P<0.05). نتایج نشان داد که نمونه‌های گوشت تیمار شده با غلظت‌های بالاتر آنزیم قارچی، امتیاز بالاتری را از نظر تردی و آبداری نسبت به نمونه شاهد کسب نموده است. نتایج مشابه ای توسط Naveena و همکاران (2004) که تاثیر آنزیم‌های پروتئولیتکی را بر روی بهبود ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی گوشت مورد بررسی قرار داده اند گزارش شده است. آن‌ها گزارش کردند که همه آنزیم‌های مورد استفاده نسبت به نمونه شاهد سبب بهبود طعم، آبداربودن، تردی و پذیرش کلی نمونه‌های گوشت شده‌اند. در این پژوهش نمونه‌های گوشت تیمار شده از لحاظ رنگ، بافت و پذیرش کلی با افزایش غلظت آنزیم میزان امتیاز کمتری را توسط داروان کسب نموداند. که به‌نظر می‌رسد عدم آشنایی ذائقه مردم با این روش‌های ترد کردن و رواج بسیار کم این نوع محصولات می‌تواند دلیل عمده این مساله باشد. در هر حال تبلیغات گسترده، بسته‌بندی شیک و ارائه این نوع محصولات در قالب فرآورده‌های فانتزی می‌تواند بر افزایش سطح پذیرش عمومی آن‌ها تاثیر قابل توجهی داشته باشد. Papadopoulos و همکاران (1991) تاثیر سدیم لاکتات را بر روی ویژگی‌های حسی، رنگ و شیمیایی گوشت مورد بررسی کردند کردند. همچنین Casaburia و همکاران (2008) تاثیر آنزیم‌های پروتئولیتکی را بر بهبود ویژگی‌های حسی سوسیس مورد بررسی قرار دادند .که نتایج آن‌ها با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد.

نتیجه‌گیری

روش‌های مختلفی برای بهبود کیفیت گوشت و استفاده بهتر آن در تولید محصولات گوشتی وجود دارد. یکی از این روش‌ها افزایش حلالیت پروتئین‌های گوشت و در نتیجه ترد شدن آن و بالا رفتن خواص امولسیون‌کنندگی و سایر خواص عملکردی آن مثل افزایش ظرفیت نگهداری آب می‌باشد. امروزه اثرات تردکنندگی آنزیم‌های موجود در گیاهان، باکتری‌ها و قارچ‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه از آنزیم قارچی *آسپرژیلوس نایجر* جهت ترد کردن گوشت قرمز مورد استفاده قرار گرفت. یکی از نتایج به‌دست آمده در این مطالعه آن است که آنزیم قارچی توانسته است تا حد زیادی ظرفیت نگداری آب، pH و پروتئین‌های محلول موجود در گوشت را

افزایش دهد. همچنین نتایج نشان داد که آنزیم قارچی در غلظت‌های مختلف برخی از پروتئین‌های گوشت را تجزیه کرده و آن ها را به واحدهایی با وزن مولکولی کوچک‌تر تبدیل کرده است. با افزایش میزان غلظت آنزیم بر روی پروتئین‌های گوشت میزان تردی و حلالیت پروتئین‌های گوشت افزایش داشته است.

جدول4- میانگین امتیاز حسی و انحراف استاندارد نمونه های حاوی پروتئازهای قارچی

تیمار	تردی	آبداری	رنگ	بافت	پذیرش کلی
Blank	3/2±/19[c]	3/5±/09[c]	4/4±/11[a]	3/4±/00[b]	4/2±/06[a]
AN (0.0025)	3/9±/37[b]	3/8±/38[c]	4/4±/05[a]	3/5±/1[a]	4/2±/11[a]
AN (0.005)	4/35±/61[a]	4/2±/51[b]	4/2±/12[b]	3/4±/12[b]	4/1±/02[b]
AN (0.01)	4/41±/34[a]	4/8±/18[a]	4/0±/11[c]	3/2±/24[c]	4/0±/41[c]

منابع

سلطانی زاده ن، کدیور م، کرامت ج، فضیلتی م، 1386. مقایسه میزان تردی عضله سمی تندینوسوس گوساله و شتر با بررسی میزان تجزیه میوفیبریل ها. هفدهمین کنگره ملی صنایع غذایی، 24-23 آبان، ارومیه، ایران.

شکرفروش، س ش، امین لاری م، صباغ ن، 1388. بررسی مقایسه ای تاثیر آنزیم فیسین بر حلالیت و الگوی الکتروفورتیک پروتئین های گوشت گاو و گوساله. مجله تحقیقات دامپزشکی. 69(1):1-6.

AACC, 1983. Approved Methode of the AACC. Complid and published by the Approved method commite. usa .

Aktas N, Aksu MI, Kaya M, 2003. The effect of organic acid marination on tenderness, cooking loss and bound water content of beef .

Aktas N, Kaya MI, 2001. Influence of weak organic acids and salts on the denaturation characteristics of intramuscular connective tissue-A differential scanning calorimetry study. *Meat Science*, 58, 413-419 .

Al-Shehri M, Abdul-Rahman, Yassar S, 2004. Production and some properties of protease produced by Bacillus licheniformis isolated from Tihametaseer, Saudi Arabia. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7, 1631- 1635 .

Arshad MS, Kwon JH, Imran M, Sohaib M, Aslam A, Nawaz I, Javed M, 2016. Plant and bacterial proteases: A key towards improving meat tenderization, a mini review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1261780.

Ashie INA, Sorensen TL, & Nielsen PM, 2002. Effects of Papain and a Microbial Enzyme on Meat Proteins and Beef Tenderness. F*ood Science*, 67(6), 2138-2142.

Bhaskar N, Benilaa T, Radha C, Lalitha RG, 2008. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (Catla catla) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Bioresource TechnologY*, 99(2), 335-343.

Booth MA, Warner-Smith RJ, Allan GL, Glencross BD, 2004. Effects of dietary astaxanthin source and light manipulation on the skin colour of Australian snapper Pagrus auratus (*Bloch and Schneider*, 1801). Aqua Res, 35(1), 458-464.

Burdette C, Breidenstein D, Kinsman and Kotula AW, 2012. Muscle Foods: Meat Poultry and Seafood Technology (Vol. 574)*: Springer Science & Business Media - Technology & Engineering*.

Casaburia A, Monaco RD, Cavella S, Toldrá F, Ercolini D, Villani F, 2008. Proteolytic and lipolytic starter cultures and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits. *Food Microbiology*, 25(2), 335-347.

Desmond EM and Troy DJ, 2001. Effectof lactic and citric acid on Low-value Beef usedfor emulsion-type Meat Products. Lebensm.-Wiss.u. - *Technol*, 34, 374-379 .

Devi MK, Banu AR, Gnanaprabhal GR and Pradeep BV, 2008. Palaniswamy M. Purification, characterization of alkaline protease enzyme from native isolate Aspergillus niger and its compatibility with commercial detergents. *Indian journal of Science and Technology*, 1, 1-6 .

Devlin TM, 2002. Text Book of Biochemistry with Clinical Correlations (5 ed.): Wiley & Sons.

Englund PT, King TP, Craig LC, Walti, A, 1968. Studieson ficin. I. Its isolation and characterization. *Biochemistry*, 7, 163-175 .

Ergezer H and Gokce R, 2011 . Comparisonof marinating with two different types of marinadeon some quality and sensory characteristics ofturkey breast meat. *Journal of Animal andVeterinary Advances*, 10, 60-67 .

Fiszman SM, Lluc MA and Salvador A, 1999. Effect of addition of gelatin onmicrostructure of acidic milk gels and

yoghurtand on their rheological properties. *International Journal*, 9, 895-90.
Flores M, Toldrá F, 2011. Microbial enzymatic activities for improved fermented meats. *Trends in Food Science & Technology*, 22(2-3), 81-90.
Fuji R, 1969. Chromatophores and pigments. In: Hoar WS, Randall DJ (eds) Fish physiology. Reproduction and growth. Bio luminescence pigments and poisons. Academic Press, New York. Vol. 111, pp.: 301-353.
Gupta A and Khare SK, 2007. Enhanced production and characterization of a solvent stable protease from solvent tolerant Pseudomonas aeruginosa. *Enzyme and Microbial Technology*, 42(1), 11-16 .
Ha M, Bekhit AED, Carne A, Hopkins Dl, 2013. Comparison of the Proteolytic Activities of New Commercially Available Bacterial and Fungal Proteases toward Meat Proteins. *Journal of Food Science*, 78(1), 170-C177. doi: 10.1111/1750-3841.12027
Ha M, Bekhitb AED, Carne A, 2014. Effects of l- and iso-ascorbic acid on meat protein hydrolyzing activity of four commercial plant and three microbial protease preparations. *Food Chemistry*, 149(1), 1-9.
Hinkle HB, 2010. Acid marination fortenderness enhancement of beef bottom round. University of Nebraska Lincoln .
Hertog-Meischke MJA, Smulders FJM, Logtestijn F Van JN and Knapen F, 1997. Effects of electrical stimulation on the water-holding capacity and protein denaturation of tow bovine muscle. *J of Animal Sci*. 75 : 118 - 24.
Istrati D, Vizireanu C, Dima F, Dinică R, 2012. Effect of margination with proteolytic enzymes on quality of beef muscle. *Scientific Study and Research*, 13(1), 81-89 .
Kaya A, Belibagli KB, 2002. Rheology of solid Gaziantep Pekmez. Journalof Food Eng, 54, 221-226.
Lee YS, Owens CM, Meullenet JF, 2009. Changes in Tenderness, Color, and Water Holding Capacity of Broiler Breast Meat during Postdeboning Aging. *Journal of Food Science*, 74(1), 449-454.
Li P, Wang T, Mao Y, Zhan Y, Niu L, Liang R and Luo X, 2014. Effect of Ultimate pH on Postmortem Myofibrillar ProteinDegradation and Meat Quality Characteristics of Chinese YellowCrossbreed Cattle. Scientific World Journal, 8 .
Lorenz TR, 1998. A review of astaxanthin as a carotenoid and vitamin source for sea bream. Naturerose Technical Bulletin. Cyanotechnology.Hawaii, USA., 52.
Naafi MH, Zeinoaldini S, Mohammadi H, Hopkinsb EN, Ponnampalam DL, 2012. Performance, carcass traits, muscle fatty acid composition and meat sensory properties of male Mahabadi goat kids fed palm oil, soybean oil or fish oil. Meat Science, 92, 848-854 .
Naveena BM, Mendiratta SK, Anjaneyulu ASR, 2004. Tenderization of Buffalomeat using proteases from Cucumis trigonus Roxb(Kachri) and Zingiber Officinale Roscoe (*Gingerrhizome*). Meat Science, 68, 363-369
Ovissipour M, Abedian A, Motamedzadegan A, Rascoc B, Safari R, Shahirie H, 2009. The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (Acipenser persicus) viscera. *Food Chemistry*, 115(1), 238-242.
Papadopoulos LS, Miller RK, Rinder LJ, Cross HR, 1991. Sodium Lactate Effect on Sensory Characteristics, Cooked Meat Color and Chemical Composition. *Journal of Food Science*, 56, 621-626.
Qihea C, Guoqinga H, Yingchunb J and Huia N, 2006. Effects of elastase from a Bacillus strain on the tenderization of beef meat. *Food Chemistry*, 98(4), 624-629.
Rawdkuen S, Benjakul S, 2012. Biochemical and microstructural characteristics of meat samples treated with different plant proteases. African Journal of Biotechnology, 11(76), 14088-14095.
Ryder K, Bekhitb AED, McConnell M, Carne A, 2016. Towards generation of bioactive peptides from meat industry waste proteins: Generation of peptides using commercial microbial proteases. *Food Chemistry*, 208(1), 42-50.
Rydera K, Haa M, Bekhitb AED, Carnea A, 2015. Characterisation of novel fungal and bacterial protease preparations and evaluation of their ability to hydrolyse meat myofibrillar and connective tissue proteins. *Food Chemistry*, 172(1), 197-206.
Sawyer JT, Apple JK, Johnson ZB, 2008. The impact of lactic acid concentration and sodium chloride on pH, water-holding capacity, and cooked color of injection-enhanced dark-cutting beef. *Meat Science*, 79, 317-325.
Sullivan GA, Calkins SR, 2010. Application of exogenous enzymes to beef muscle of high and low-connective tissue. *Meat Science*, 85(4), 730-734.
Walsha H, Martinsa S, O'Neilla EE, Kerrya JP, Kennyb T and Ward P, 2010. The effect of sodium lactate, potassium lactate, carrageenan, whey protein concentrate, yeast extract and fungal proteinases on the cook yield and tenderness of bovine chuck muscles. *Meat Science*, 85(2), 230-234 .
Warriss PD, 2000. Meat science - anintroductory text. CABI Publishing, UK, 310 p .
Willy N, 2011. Meat Tenderizer: Culp Press - Juvenile Nonfiction.
Zeola NM, Souza BL, Sobrinho PA, Souza AG, Pelicano ERL, Leonel FR, Boiago MM, 2003. Methods of cooking and its influence on meat quality of lamb. 49th International Congress of Meat Science and Technology-ICoMST

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 1, Apr. May. 2019, p.25- 35

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 1، فروردین -اردیبهشت 1398 ص.35-25

Effect of *Aspergillus niger* protease on beef tenderness

SH. Mahdikhani, N. Esmailkhani, A. Mohammadi

Received: 2016.12.04
Accepted: 2017.06.04

Introduction: Meat quality is always very important for consumers. Tenderize meat one way to improve the quality of Meat and its products. In the study effect of three levels (0.0025, 0.005 and 0.01 percent) of protease produced by *Aspergillus niger* on meat tenderness during the 28 days of storage at 4 ° C were studied. Then treatments to control the physicochemical and sensory characteristics were evaluated. In this study tests the total soluble protein, moisture content, pH, colorimetric, texture analysis, water holding capacity and sensory evaluation of meat quality parameters were used. The results of the tests carried out showed that soluble proteins, pH and moisture content levels generated by increasing the enzyme from 0.0025 to 0.01 percent was significantly increased ($P<0.05$), But on the rigidity by increasing the enzyme decreased firmness. Results also showed that water holding capacity has decreased, but all treatments during storage period 0/01 enzyme treatment showed the highest capacity at the end. Brightness index (L *) and yellowness index (b *) during maintenance treatments reduce the redness index (a *) increased. The sensory characteristics of diet supplemented with 0.0025% of fungal enzymes and control the admission showed more acceptable. So this study using *Aspergillus niger* enzyme for use in to tenderize meat it considers appropriate.

Materials and methods: For this purpose, 4 samples of 500 grams of Rhomboideus muscle from the 1.5-year-old Holstein male calf from the Rock Company slaughterhouse were immediately prepared for killing. Samples were stored in a refrigerator at 4 ° C for 48 to 72 hours. Each muscle was maintained as a non-injectable control unit (control sample). Then injected into three other parts of the enzyme solution. Protein solution of *Aspergillus Niger* was obtained from the Iranian Institute of Science and Technology. Then injection of the extracts of the enzyme into the sequences by the injector with 0.01% (AN 0/01), 0.005% (AN 0/005) and 0.0025% (AN 0/0025) (Mg / 100 grams of meat) of fungal protease separately into meat pieces. The pieces of meat were treated using an injector with 4 needles in each row with 10 needles with a spacing of 2.8 cm and a pressure of 35 injections. After injection, the muscle samples were packed under vacuum and immediately stored at 4 ° C for 28 days. On the days 1, 7, 14, 21 and 28, the relevant tests were performed on the treatments. To measure the pH, 10 g of the milled meat was mixed in 90 g of deionised water. The prepared mixture was then plated with a rough filter paper (average watten-diameter of 150 mm). Finally, pH was measured using a digital pH meter. The homogeneous moisture content of the meat samples was measured using the oven method and according to AOAC standard No. 46/950. The basis of the test is based on the measurement of total nitrogen in foods, assuming that all N is a protein type and is based on the coefficients of N-to-protein conversion. To determine the protein values, use the method outlined in AOAC (1996). Used. To measure the protein, the Kjeldahl method was used by the Kjeldahl machine constructed in Japan. The color of the meat was measured by a color spectrometer (CR-300, Minolta, Co. Ltd., Japan) every seven days. White tile with b *: 1.72; a *: -0.02; L *: 97.46 is considered as reference.This test was performed to examine the tissue texture strength of the specimens by using Feismann et al. (1999) by Brookfield Engineering Laboratories, USA at 4 ± 2 ° C. In this test, a cylindrical probe with a smooth cross-section with a diameter of 12.7 mm and a speed of 1 ml / sec was used. In order to measure the water holding capacity, the amount of water extracted from the cutting surface of meat samples under 500 psi pressure and 1 minute time to the filter cassette was accurately weighed to 0.001 g and was expressed as extractable moisture content. The evaluation of sensory features in terms of five factors including hardship, substrate, texture, color and general acceptance was performed using 10 evaluated trainees by Hedonic method by completing an evaluation questionnaire. To each of the mentioned factors, the privilege was allocated from 1 to 5. The way to score was based on the fact that the number 5 represents the highest score and the number 1 represents the lowest score all experiments were performed in a completely randomized design with three replications. Means were compared using SPSS 21 and based on Duncan's tests at 5% level. The resulting charts in the 2013 excel software were drafted and compared.

(*- Corresponding Author Email: mohammadi.ali60@gmail.com)

Results & Discussion: There are several ways to improve the quality of meat and its better use in the production of meat products. One of these methods is to increase the solubility of the meat proteins and, consequently, to crumble and increase the properties of the emulsion and other functional properties such as increasing water holding capacity. Today the effects of the enzymes in plants, bacteria and fungi have been investigated. In this study, the Aspergillus Niger fungal enzyme was used to crust meat. One of the results of this study is that the fungal enzymes have been able to greatly increase the water content of the water, pH and soluble proteins in the flesh, due to increasing the duration of the enzyme's effect and the concentration of the enzyme on Insoluble proteins such as collagen and elastin are completely digestible and their nature has changed (Englund et al., 1968). Also, the results show that the enzyme breaks down some of the protein proteins and forms them in smaller molecular weight units. As you can see, increasing the amount of enzyme concentration on meat proteins has increased the amount of crust and solubility of meat proteins.

Keywords: *Aspergillus niger,* Soluble protein, Meat tenderness, pH